

# Erythrocytapheresis, a treatment modality in hereditary hemochromatosis

Citation for published version (APA):

Rombout-Sestrienkova, E. (2016). *Erythrocytapheresis, a treatment modality in hereditary hemochromatosis*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Datawyse / Universitaire Pers Maastricht. <https://doi.org/10.26481/dis.20161208er>

**Document status and date:**

Published: 01/01/2016

**DOI:**

[10.26481/dis.20161208er](https://doi.org/10.26481/dis.20161208er)

**Document Version:**

Publisher's PDF, also known as Version of record

**Please check the document version of this publication:**

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

**General rights**

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

[www.umlib.nl/taverne-license](http://www.umlib.nl/taverne-license)

**Take down policy**

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

[repository@maastrichtuniversity.nl](mailto:repository@maastrichtuniversity.nl)

providing details and we will investigate your claim.



## Samenvatting



## Samenvatting

Hereditaire Hemochromatose (HH) is de meest voorkomende autosomaal recessieve aandoening onder de Noord-Europese bevolking, met een prevalentie van 0,4%.<sup>1</sup> HH wordt gekenmerkt door een toegenomen ijzerabsorptie, die kan leiden tot een overmatige ijzerstapeling in de weefsels en organen met functieverlies als resultaat. De meest frequent aangedane organen zijn lever, hart, alvleesklier, gewrichten, huid en gonaden.

De aandoening is de eerste keer beschreven als “bronze diabetes” door Trousseau in 1865.<sup>2</sup> De naam hemochromatose is geïntroduceerd door von Recklinghausen in 1889.<sup>3</sup> Sheldon heeft als eerste in 1953 gewezen op een aangeboren afwijking in het ijzer metabolisme als oorzaak van deze aandoening.<sup>4</sup> In 1996 werd door Feder de mutatie in het zogenaamde HFE gen, die verantwoordelijk is voor het klinische beeld bij de meerderheid van de patiënten, ontdekt.<sup>5</sup>

Op dit moment zijn 4 typen van HH bekend, waarbij type 1, de zogenaamd HFE gerelateerde HH, het meest voorkomende is. De meest voorkomende mutatie, gelokaliseerd op de korte arm van chromosoom 6, is G-A transitie op de nucleotide 845 van het HFE gen, resulterend in substitutie van cysteïne door tyrosine in aminozuur 282, aangegeven als p.C282Y (subtype 1a). In de bevolking van Noord-Europa komt homozygotie voor deze mutatie bij 1 op 200-300 inwoners voor. Echter slechts 1-33% van alle homozygote dragers ontwikkelt ook het klinische beeld van ijzerstapeling.<sup>6,7</sup> De penetrantie van de aandoening is veel lager bij de vrouwen dan bij mannen (1,2% versus 28,4%).<sup>8</sup> Dit komt door het fysiologische bloedverlies tijdens menstruaties, ijzerverbruik in de zwangerschap en het anti-oxidante effect van oestrogenen. Daarnaast spelen hogere hepcidine levels een rol. Dit is waargenomen in muizen<sup>8</sup> en bij p.C282Y homozygote vrouwen met een BMI  $\geq 28$  kg/m<sup>2</sup>.<sup>9</sup> Een ander bekend subtype (subtype 1b) is de p.H63D mutatie. Deze mutatie veroorzaakt geen klinisch relevante ijzerstapeling, maar kan als cofactor in combinatie met een p.C282Y mutatie een bijdrage leveren aan het ontwikkelen van het klinische beeld van ijzerstapeling. De andere, niet HFE gerelateerde, HH genotypen hebben een zeer lage prevalentie. Type 2 HH is geassocieerd met mutaties in het hemojuvelin (subtype 2a) of het hepcidine (subtype 2b) gen. Type 3 HH wordt veroorzaakt door mutaties in het transferinne receptor gen en type 4 (A en B) HH door mutaties in het ferroportin gen. Een andere vorm van ernstige ijzerstapeling is aceruloplasminemia, veroorzaakt door afwezigheid van het feroxidase enzym ceruloplasmine. Deze ziekte wordt gekarakteriseerd door ijzerstapeling in verschillende organen inclusief het centrale zenuwstelsel.

De types 1, 2, en 3 zijn gekarakteriseerd door onvoldoende aanmaak van hepcidine, een peptide dat een sleutelrol speelt in de homeostase van het ijzer metabolisme.<sup>10-11</sup> Alleen bij type 4 is de productie van hepcidine normaal, maar is de export functie van ferroportin verloren gegaan (4A) of is de receptor functie van ferroportine veranderd (4B).

---

De manifestatie van HH is zeer divers en varieert van alleen genetische afwijkingen (genotype), biochemische afwijkingen (biochemische fenotype) tot ernstige orgaan beschadiging (klinische fenotype). Ongeveer een derde van alle patiënten ontwikkelt het klinische ziektebeeld. De meest voorkomende afwijking bij klinische onderzoek is hepatomegalie.<sup>6</sup> De meest voorkomende symptomen zijn chronische vermoeidheid, gewrichtsklachten, buikklachten en verhoogde levertransaminasen.<sup>12-13</sup> Als de ziekte niet tijdig wordt herkend en behandeld, geeft de door ijzer geïnduceerde activatie van “stellate cellen” aanleiding tot fibrose vorming en uiteindelijk progressie tot levercirrose en het ontwikkelen van een hepatocellulair carcinoom.<sup>14</sup> Levercirrose en hepatocellulair carcinoom zijn de meest voorkomende doodsoorzaak bij niet behandelde HH patiënten. Andere complicaties van gevorderde HH zijn diabetes, veroorzaakt door ijzerstapeling in de alvleesklier, cardiomyopathie en hartritme stoornissen, veroorzaakt door ijzerstapeling in het hart, impotentie en hypogonadotroop hypogonadisme, veroorzaakt door ijzerstapeling in de hypofyse en testis en artropathie en arthritiden met primaire betrokkenheid van 2<sup>de</sup> en 3<sup>de</sup> metacarpo-phalangeale gewrichten. Sommige manifestaties zoals vermoeidheid, pigmentaties van de huid en leverfibrose, kunnen met adequate behandeling afnemen, andere complicaties, eenmaal opgetreden, zijn onomkeerbaar.<sup>15-16</sup> Behandeling in een vroeg stadium kan complicaties van ijzerstapeling voorkomen. De levensverwachting van adequaat behandelde patiënten verschilt niet van de populatie zonder deze aandoening, mits de ziekte is gediagnosticeerd voor de ontwikkeling van diabetes en cirrhose.<sup>17-19</sup>

Voor het stellen van de diagnose zijn verhoogde waarden van serum ferritine (SF) en transferrine saturatie (TS) van belang. De diagnose wordt bevestigd met genetische onderzoek naar de p.C282Y mutatie. Patiënten die negatief zijn voor deze mutatie maar bij wie ijzerstapeling in de organen is aangetoond, dienen te worden onderzocht op bijzondere mutaties. Bij patiënten die homozygoot zijn voor de p.C282Y mutatie is genetische screening bij volwassen eerste graads familie leden geïndiceerd.<sup>20</sup> Een leverbiopsie is niet langer nodig voor het bevestigen van de diagnose, maar wordt wel geadviseerd voor de stadiëren van de graad van fibrose, mits de SF waarde boven 1000 µg/l<sup>21</sup> is. Tegenwoordig worden “magnetic resonance imaging” (MRI) technieken gebruikt voor het evalueren van de hoeveelheid ijzeropslag in organen. Echter er zijn meer prospectieve studies en gestandaardiseerde protocollen nodig voordat de toepassing van MRI in diagnostiek en de evaluatie van de behandeling standaard gaat worden.

Behandeling van HH is gebaseerd op het verwijderen van overmaat van lichaam ijzer en bestaat uit twee fasen, de initiële /depletie fase en de onderhoud fase. Het doel van de initiële fase is het verlagen van SF tot streefwaarden. Het doel van de onderhoudsfase is het handhaven van de streef SF-waarde tijdens een levenslange behandeling.

Voor het ontijzeren kunnen drie verschillende behandelmethodes toegepast worden: aderlating, erythrocytaferese en toedienen van chelatoren. De laatst genoemde optie

wordt alleen gebruikt in geselecteerde groepen van patiënten, namelijk patiënten met een moeizame veneuze toegang of patiënten met bloedarmoede.

Aderlating is momenteel breed geaccepteerd als standaard behandeling en bestaat tijdens de depletie fase uit wekelijkse afname van 500 ml volbloed. Het totaal aantal uit te voeren procedures varieert afhankelijk van de initiële SF waarde en de voorraad opgeslagen ijzer en kan oplopen tot meer dan honderd behandelingen in een periode van 2 jaar. In de onderhoudsbehandeling fase bedraagt het aantal behandelingen 2-6 per jaar. De meest voorkomende bijwerkingen van deze behandeling zijn moeheid, flauwvallen, pijn ter plaatse van de punctie, bloeditstorting en bloedarmoede. Ongeveer 52% van alle patiënten in de initiële fase en 37% in de onderhoudsfase melden bijwerkingen van de behandeling. Zelfs 16 % van de patiënten zou overwegen te stoppen met aderlatingen, mits een alternatieve behandeling beschikbaar zou zijn.<sup>22</sup>

Een van de alternatieven is het gebruik van erythrocytaferese, een selectieve afname van erythrocyten door middel van een afereseprocedure. Met deze behandeling is het mogelijk per procedure 300-1000 ml erythrocyten af te nemen, waardoor er significant minder procedures nodig zijn voor initiële ontijzeren in vergelijking met aderlating. Een bijkomend voordeel van deze behandeling is teruggave van plasma, witte bloedcellen en bloedplaatjes aan de patiënt. Om die reden is de behandeling geschikt voor patiënten met een verlaagd aantal bloedplaatjes of laag proteïne gehalte. Tot de mogelijkheden behoort ook compensatie van de afgenomen volume met fysiologische zout of colloïden. Hierdoor is de procedure ook geschikt voor patiënten met cardiovasculaire of hemodynamische problematiek.

In de laatste 20 jaar zijn er meerdere publicaties verschenen die wijzen in de richting van een hogere effectiviteit van erythrocytaferese.<sup>22-35</sup>

Het doel van dit proefschrift was om op een “evidence-based” manier de rol van erythrocytaferese in beide fasen van de behandeling te evalueren. Onze hypothese was dat deze behandelmethode het aantal benodigde behandelingen met ten minste 50% zal verlagen. Daarmee zullen bijwerkingen en behandelkosten dalen en kan de kwaliteit van leven en therapietrouw van patiënten stijgen.

In **Hoofdstuk 1** is een overzicht gegeven van geschiedenis, pathofysiologie, diagnostiek, klinische verschijningsvormen en huidige behandelingen van hereditaire hemochromatose.

## Depletie fase van de behandeling

**Hoofdstuk 2** presenteert de resultaten van een pilot studie. Nieuw gediagnosticeerde patiënten met type 1 HH (n=6), behandeld in de depletie fase met erythrocytaferese werden vergeleken met een historische controle groep (n=6) van patiënten met type 1 HH, behandeld met aderlating. In de groep behandeld met erythrocytaferese hebben

---

we een reductie van bijna 70% in het aantal behandelingen en ook van de totale duur van de depletie fase kunnen waarnemen. Dit bevestigde dat erythrocytaferese superieur is aan aderlating. Bij deze studie dienen we de beperking in design, van een historische vergelijking van twee kleine patiënten groepen te verdisconteren.

In de periode tussen 2005 en 2008 hebben we een gerandomiseerde klinische trial (RCT) uitgevoerd, waarin we erythrocytaferese met aderlating in de depletie fase van behandeling hebben vergeleken. Het betrof een groep van 38 nieuw gediagnosticeerde patiënten met type 1 HH, homozygoot voor p.C282Y mutatie. De primaire uitkomst van deze studie was het aantal behandelingen dat nodig was om de targetwaarde van SF van 50 µg/l te bereiken. Secundaire uitkomstmaten van de studie waren: de totale duur van depletie fase, het optreden c.q. voorkomen van bijwerkingen, veranderingen in ijzerstatus en leverfuncties, kwaliteit van leven en kosten. De resultaten van deze RCT zijn in **hoofdstuk 3** beschreven. We vonden dat het toepassen van erythrocytaferese, vergeleken met aderlating, het aantal behandelingen met 67% deed afnemen (57% na de correctie voor de initiële waardes van SF en het lichaamsgewicht), alsmede de behandelingsduur van de depletie fase met 42% (30% na de correctie). De geobserveerde reductie van 67% (voor correctie) voor het aantal behandelingen komt overeen met de resultaten van onze pilot studie. Er bestond ongelijkheid betreffende initiële waardes van SF tussen beide groepen na randomisatie. Echter, ook multivariate analyse met correctie voor confounders, zoals de initiële waarde van SF en het lichaamsgewicht, bevestigde de conclusies van de univariate analyse. Achteraf een gestratificeerde randomisatie, betreffende initiële waardes van SF, bleek de beste oplossing voor eventuele toekomstige studies. Een post-hoc analyse van de data liet zien dat patiënten met lichaamsgewicht boven 76 kg de meeste baat hadden bij toepassen van erythrocytaferese. Gebaseerd op de uitslagen van deze studie hebben we voorstellen gemaakt voor behandel-regimes tijdens depletie fase van de behandeling.

#### *Geadviseerd behandel regime voor de depletie fase*

- Behandel procedures uitvoeren in een frequentie van eenmaal in de 2-3 weken, afhankelijk van de waarde van het hemoglobine gehalte.
- De hoeveelheid van de af te nemen erythrocyten individueel bepalen, afhankelijk van het totale bloedvolume van de patiënt (bepaald door geslacht, lichaamsgewicht en lengte) en de actuele hematocriet waarde van de patiënt.
- De minimale waarde van post procedure hematocriet instellen op een ondergrens van 30%, bij voorkeur 32-34%.

#### *IJzer parameters*

In de **hoofdstuk 4** zijn de resultaten gepresenteerd van een retrospectieve observationele studie, waarin we serum ijzer parameters bij 12 mannelijke patiënten met type 1 HH tijdens de depletie fase van de behandeling hebben vergeleken. Zes patiënten werden behandeld met aderlating en 6 met erythrocytaferese. Deze

resultaten lieten zien dat gepersonaliseerde erythrocytaferese leidt tot minder uitgesproken daling van het serum hepcidine. Dit kan klinisch relevant zijn en kan een verhoogde ijzer-resorptie veroorzaken door de daling van hepcidine zelfs voorkomen. Verder liet deze studie zien dat erythrocytaferese leidt tot meer stabiele waarden van het hemoglobine gehalte tijdens de gehele behandelfase. Dit wordt veroorzaakt door een langere herstelperiode tussen twee opeenvolgende behandelingen. Al deze resultaten dienen te worden bevestigd in prospectieve studies.

#### *Het voorspellen van het aantal behandelingen*

In het **hoofdstuk 5** presenteren we een predictie model, welke het aantal behandelingen inschat tijdens de depletie fase, bij het gebruik van aderlating of erythrocytaferese. Dit model is gebaseerd op de retrospectieve data van in totaal 97 nieuw gediagnosticeerde patiënten met type 1 HH, behandeld met aderlating (54) of erythrocytaferese (43) tot serum ferritine (SF) waarde tussen 50-100 µg/l. Wat betreft erythrocytaferese waren de initiële waarde van SF, initiële waarde van hemoglobine en lichaamsgewicht de beste voorspellers. Voor de aderlating waren dat de initiële waarde van SF en lichaamsgewicht. Dit model kan behandelaren en patiënten samen helpen om de meest effectieve behandelmethodes voor een individuele patiënt te selecteren. Verder kan het model inzicht geven in kosteneffectiviteit van beide methodes bij de start van de behandeling. Omdat deze studie deels is verricht op retrospectieve data, is het nodig om het predictie model prospectief te valideren in de nabije toekomst.

#### Onderhoudsfase van de behandeling

De toepassing van erythrocytaferese in de onderhoudsfase van de behandeling is bestudeerd in een cross-over gerandomiseerde studie, uitgevoerd in de periode tussen 2008-2011 en beschreven in **hoofdstuk 6**. De resultaten laten zien, dat erythrocytaferese het aantal behandelingen per jaar met 42% doet afnemen en verlengt 2,3 maal het interval tussen twee behandelingen. Gebaseerd op deze resultaten hebben we adviezen opgesteld voor de onderhoudsfase van de HH behandeling.

#### *Geadviseerd behandel regime voor de onderhoudsfase*

- De frequentie van behandel procedures verlagen tot 1-3 procedures per jaar, soms is zelfs 1 procedure in 1,5 tot 2 jaar voldoende.

In het **hoofdstuk 7** is een bijzondere casus beschreven: een patiënt in de eindfase van cardiomyopathie, veroorzaakt door cardiale siderose bij HH type 1. Deze patiënt werd succesvol behandeld met erythrocytaferese in combinatie met een kunsthart. Ondanks dat deze patiënt in de eerste instantie een kandidaat was voor harttransplantatie, was na ontijzering door middel van de erythrocytaferese zijn algehele conditie zodanig verbeterd, dat behandeling met transplantatie niet meer nodig was. Deze casus laat



---

zien dat erythrocytaferese een goed verdraagbare behandeling is, zelfs bij de patiënten die hemodynamisch instabiel of gecompromitteerd zijn.

#### *Bijwerkingen van de behandeling*

In de beide gerandomiseerde studies beschreven in **hoofdstuk 3 en 6** hebben we actief het voorkomen van de bijwerkingen gemonitord. In het algemeen leidt de toepassing van de aferese techniek tot verlaging van het aantal bijwerkingen. Dit is toe te schrijven aan het gebruik van fysiologisch zout voor het compenseren van het verwijderde volume van erythrocyten en aan de langere collectie tijd.

De meest voorkomende maar nog steeds zeldzame bijwerkingen bij het toepassen van erythrocytaferese zijn de reacties op het gebruik van citraat, dat als een antistollingsmiddel wordt toegepast.

Beide gerandomiseerde studies lieten geen significant verschil zien in het aantal bijwerkingen bij toepassing van erythrocytaferese, vergeleken met het aantal bijwerkingen tijdens behandeling met aderlating. Dit komt omdat bijwerkingen zeldzaam zijn en het aantal geïncludeerde patiënten beperkt was.

#### *Kosten*

Een echt obstakel bij de dagelijkse toepassing van erythrocytaferese wordt gevormd door de kosten van de behandeling. In de gerandomiseerde studie beschreven in **hoofdstuk 3**, lieten we zien dat kosten voor een enkele erythrocytaferese procedure ruim 3,5 maal hoger zijn dan kosten voor een aderlating procedure. Desondanks, zijn de totale kosten voor de gehele depletiefase, in dezelfde range, of zelfs lager, in vergelijking met aderlating. Dit is toe te schrijven aan een significante reductie in het totaal aantal behandelingen, reiskosten en kosten gerelateerd aan werkverzuim.

In de gerandomiseerde studie beschreven in **hoofdstuk 6**, waren de gemiddelde kosten per jaar onderhoudsbehandeling € 234 bij de toepassing van aderlating, versus € 510 bij de toepassing van erythrocytaferese. Dit verschil in kosten in onderhoud versus depletiefase van behandeling is te verklaren door het veel geringer aantal behandelingen. Ook speelt een rol het feit dat we in deze studie geen rekening hebben gehouden met kosten veroorzaakt door werkverzuim, dit ten gevolge van een grotendeels gepensioneerde populatie in deze studie.

#### *Voorkeur van patiënten*

Ondanks het gegeven dat er geen verschil werd waargenomen tussen kwaliteit van leven in beide studies, hadden patiënten wel een duidelijke voorkeur voor de behandeling met erythrocytaferese (81%), zoals we hebben laten zien in **hoofdstuk 6**. De belangrijkste redenen voor de keuze van erythrocytaferese waren: hogere effectiviteit en lagere aantal van de behandelingen, teruggave van resterende onderdelen van bloed aan de patiënt, minder belasting voor het lichaam en anders en betere algemene welzijn gevoel na de behandeling, in vergelijking met aderlating.

Betreffende de behandellocatie koos de meerderheid van de patiënten voor de bloedbank (78%). Onderbouwing voor deze keuze was persoonlijke aandacht, vriendelijk en professioneel personeel en rustige omgeving.

### Conclusie (hoofdstuk 8)

Aderlating is nog steeds de meest frequent toegapaste behandeling van patiënten met HH. Dit ondanks sterke aanwijzingen dat gepersonaliseerde erythrocytaferese een meer effectieve behandeling is dan aderlating met een goede balans tussen effectiviteit, tolerantie en kosten. De patiënt staat centraal en rekening houden met patiënten voorkeuren in behandeling is leidend.

In de toekomst zijn prospectief uitgevoerde gerandomiseerde studies nodig, om het effect van erythrocytaferese op het beloop van ijzerparameters te beoordelen. Daarnaast willen we in prospectieve studies, uitgevoerd in meerdere centra, ons predictie model valideren.

---

## Referenties

1. Van Bokhoven MA, van Deursen CThBM, Swinkels DW. Diagnosis and management of hereditary hemochromatosis. *BMJ* 2011;342:c7251
2. Trousseau A. Glycosurie, Diabète sucré. Clinique Médical de l'Hôtel-Dieu de Paris. 2nd edition, vol.2. Baillière, Paris. 1865:663-98.
3. Von Recklinghausen FD. Hämochromatose. *Tageblatt der Naturforschenden Versammlung* (1889), Heidelberg, 1890:324.
4. Sheldon J. Haemochromatosis. Oxford University Press, London, UK. 1953.
5. Feder JN, Gnirke A, Thomas W et al. A novel MHC class I-like gene is mutated in patients with hereditary hemochromatosis. *Nature Genetics*. 1996;13:399-408.
6. Pietrangelo A. Hereditary hemochromatosis: pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Gastroenterology*. 2010;139:393-408.
7. Allen KJ, Gurrin LC, Constantine CC et al. Iron-overload-disease in HFE hereditary hemochromatosis. *New Engl J Med*. 2008;358:221-230.
8. Krijt J, Cmejla R, Sykora V, Vokurka M, Vyoral D, Necas E. Different expression pattern of hepcidin genes in the liver and pancreas of C57BL/6N and DBA/2N mice. *J Hepatol*. 2004;40:891-896.
9. Desgrippes R, Lainé F, Morcet J, Perrin M, Manet G, Jezequel C, Bardou-Jacquet E, Ropert M, Deugnier Y. Decreased iron burden in overweight C282Y homozygous women: Putative role of increased hepcidin production. *Hepatology*. 2013;57(5):1784-92.
10. Park CH, Valore EV, Waring AJ, Ganz T. Hepcidin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *J Biol Chem*. 2001;276(11):7806-10.
11. Ganz, T. Hepcidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. *Blood*. 2003;102:783-8.
12. Swinkels DW, Aalbers N, Elving LD, Bleijenberg G, Swanink CM, van de Meer JW. Primary hemochromatosis: a missed cause of chronic fatigue syndrome?, *Neth J Med*. 2002;60:429-433.
13. Janssen MCH, Swinkels DW. Hereditary haemochromatosis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2009;23:171-183.
14. Barton JC, Edwards CQ, Phatak PD, Britton RS, Bacon BR. Iron toxicity. In: Barton JC, Edwards CQ, Phatak PD, Britton RS, Bacon BR. *Handbook of Iron Overload Disorders*. Cambridge, England: Cambridge University Press, 28-33.
15. Bomford A, Williams R. Long term results of venesection therapy in idiopathic haemochromatosis. *QJM*. 1976;45:611-623.
16. Falize L, Guillygomarc'h A, Perrin M, Lainé F, Guyader D, Brissot P, Turlin B, Deugnier Y. Reversibility of hepatic fibrosis in treated genetic hemochromatosis: a study of 36 cases. *Hepatology*. 2006;44:472-477.
17. Milman N, Pederson P, á Steig T, Byg KE, Gradual N, Fenger K. Clinically overt hereditary hemochromatosis in Denmark 1948-1985: epidemiology, factors of significance for long-term survival, and causes of death in 179 patients. *Ann Hematol*. 2001;80:737-744.
18. Niederau C, Fisher R, Pursuchel A, Stremmel W, Haussinger D, Strohmayer G. Long-term survival in patients with hereditary hemochromatosis. *Gastroenterology*. 1996;110:1107-1119.
19. Wojcik JP, Speechley MR, Kerstes AE, Chakrabarti S, Adams PC. Natural history of C282Y homozygotes for hemochromatosis. *Can J Gastroenterol*. 2002;16:297-302.
20. Porto G, Brissot P, Swinkels DW, Zoller H, Kamarainen O, Patton S, Alonso I, Morris M, Keeney S. EMQN best practice guidelines for the molecular genetic diagnosis of hereditary hemochromatosis (HH). *Eur J Hum Genet*. 2016;24:479-495.
21. Brissot P, Ball S, Rofail D, Cannon H, Wu Jin V. Hereditary hemochromatosis: patient experiences of the disease and phlebotomy treatment. *Transfusion*. 2011;51:1331-1338.
22. Conte D, Brunelli L, Bozzani A, et al. Erythrocytapheresis in idiopathic haemochromatosis. *Br Med J. (Clin Res Ed)* 1983;286:939.
23. Zoller WG, Kellner H, Spengel FA. Erythrocytapheresis. A method for rapid extracorporeal elimination of erythrocytes. Results in 65 patients. *Klin Wochenschr*. 1988;66:404-9.
24. Conte D, Mandelli C, Cesana M, et al. Effectiveness of erythrocytapheresis in idiopathic hemochromatosis. Report of 14 cases. *Int J Artif Organs*. 1989;12:59-62.

25. Kellner H, Zoller WG. Repeated isovolemic large-volume erythrocytapheresis in the treatment of idiopathic hemochromatosis. *Z Gastroenterol.* 1992;30:779-83.
26. Kohan A, Niborski R, Daruich J, et al. Erythrocytapheresis with recombinant human erythropoietin in hereditary hemochromatosis therapy: a new alternative. *Vox Sang.* 2000;79:40-5.
27. Muncunill J, Vaquer P, Galmes A, et al. In hereditary hemochromatosis, red cell apheresis removes excess iron twice as fast as manual whole blood phlebotomy. *J Clin Apher.* 2002;17:88-92.
28. Mariani R, Pelucchi S, Perseghin P, et al. Erythrocytapheresis plus erythropoietin: an alternative therapy for selected patients with hemochromatosis and severe organ damage. *Haematologica.* 2005;90:717-8.
29. Fernandez-Mosteirin N, Salvador-Osuna C, Garcia-Erce JA, et al. Comparison between phlebotomy and erythrocytapheresis of iron overload in patients with HFE gene mutations. *Med Clin. (Barc)* 2006;127:409-12.
30. Wijermans P, van Egmond L, Ypma P, et al. Isovolemic erythrocytapheresis technique as an alternative to conventional phlebotomy in patients with polycythemia rubra vera and hemochromatosis. *Transfus Apher Sci.* 2009; 40:137.
31. Poullin P, Lefevre PA. Effectiveness of therapeutic erythrocytapheresis to achieve iron depletion in hereditary type 1 hemochromatosis: Report of 30 cases. *Transfusion Clinique et Biologique.* 2011;18: 553-8.
32. Řeháček V, Bláha M, Jirušová H, Černohorská J, Papoušek P. Therapeutic erythrocytapheresis in the initial treatment of hereditary hemochromatosis. *Acta Medica.* 2012;55(4):180-185.
33. Evers D, Kerkhoffs JL, Van Egmond L, Schipperus MR, Wijermans PW. The efficiency of therapeutic erythrocytapheresis compared to phlebotomy: A mathematical tool for predicting respons in hereditary hemochromatosis, polycythemia vera, and secondary erythrocytosis. *J Clin Apher.* 2014;29:133-138.
34. Sundic T, Hervig T, Hannisdal S, et al. Erythrocytapheresis compared with whole blood phlebotomy for the treatment of hereditary hemochromatosis. *Blood Transfus.* 2014;12 Suppl 1:s.84-9.
35. Stefashyna O, Stern M, Infanti L, Holbro A, Tichelli A, Buser A, O'Meara A. Pattern of care of blood donors with early-uncomplicated hereditary haemochromatosis in a Swiss blood donation centre. *Vox Sanguinis.* 2014;106:111-117.